

# Multiplication végétative du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) par culture *in vitro* Stratégie et résultats (1)

Y. DUVAL (2), T. DURAND GASSELIN (3), K. KONAN (3) et C. PANNETIER (4\*)

**Résumé.** — La multiplication végétative du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) s'est développée en utilisant la voie de l'embryogénèse somatique sur cals de divers organes. Le passage par cals présente des risques quant à la stabilité génétique. De plus, la production de masse nécessite la prolifération des tissus cultivés *in vitro*. Cette prolifération peut intervenir soit au niveau des cals soit au niveau des embryoides. Dans le premier cas, il s'agit de la prolifération de tissus indifférenciés dans des conditions favorisant une croissance rapide (milieux de culture riches en auxines — le plus souvent chlorés) et pendant des délais qui peuvent être longs. Dans le second cas, les embryons sont produits sur cals issus de fragments foliaires et subcultivés en conditions ne favorisant pas une croissance rapide. Les embryoides sont ensuite multipliés par un phénomène d'embryogénèse adventive sans apport de substances de croissance. Ces conditions doivent être plus favorables à la production de plants « conformes ». Cette voie a été développée et appliquée à plus de 200 arbres âgés de 20 à 25 ans sélectionnés pour leurs qualités agronomiques, au laboratoire de La Mé en Côte d'Ivoire. Tous les arbres utilisés ont donné des cals, 40 p. 100 d'entre eux ont fourni des embryons somatiques après 1 an de culture *in vitro*. Les rendements sont meilleurs en utilisant des individus plus jeunes, de 7 à 9 ans (70 p. 100 donnent des embryoides après 4 mois de culture). De 1983 à 1986, 44 clones ont été plantés sur 38 hectares. Les plantations 1983 et 1984 présentent 100 p. 100 d'individus aux caractéristiques normales en particulier au niveau des régimes ; l'analyse de la production est en cours.

## INTRODUCTION

Les caractéristiques biologiques du palmier à huile ne permettent pas d'utiliser certaines techniques classiques de culture *in vitro*, mises généralement au point sur les dicotylédones, comme la culture de méristèmes ou le microbouturage. De ce fait, tous les chercheurs ayant réussi la multiplication végétative *in vitro* du palmier à huile ont utilisé des processus d'embryogénèse somatique sur cal [Jones, 1974 ; Rabéchault et Martin, 1976 ; Paranjothy et Othman, 1982 ; Nwanko et Krikorian, 1983].

Il est généralement admis que le passage par un tissu dédifférencié présente des risques non négligeables de variabilité des plantes obtenues par rapport à l'individu de départ. L'absence d'alternative dans le choix de la voie utilisée, et les risques liés à la méthode, ont fait partie des préoccupations des chercheurs dès le début des travaux sur la micropropagation du palmier à huile [Smith et Jones, 1970 ; Noiret, 1981]. Après l'obtention des premiers vitroplants, les essais aux champs ont montré une série de résultats encourageants [Corley *et al.*, 1977], malgré l'apparition de plants présentant des anomalies de vitesse de croissance et de port foliaire [Corley *et al.*, 1981]. Plus récemment, des anomalies de l'appareil reproducteur ont été rap-

portées ; leur fréquence d'apparition a été corrélée à la durée de culture *in vitro* à certains stades [Corley *et al.*, 1986].

Dès l'obtention des premiers vitroplants [Rabéchault et Martin, 1976], ces risques de variation ont été pris en compte par les chercheurs de l'IRHO. Une stratégie portant sur les méthodes de culture *in vitro* et sur la mise en place d'essais au champ a été élaborée, ce qui a entraîné une modification profonde du procédé d'obtention des vitroplants [Pannetier *et al.*, 1981].

Le dispositif de recherche correspondant, mis en place par l'IRHO, comprend l'équipe de chercheurs ORSTOM/IRHO travaillant dans le laboratoire de Bondy (France), un laboratoire expérimental installé sur la Station de La Mé (Côte d'Ivoire) depuis 1981 et une équipe de généticiens et sélectionneurs travaillant en France et Outre-mer.

Des recherches sont conduites par l'équipe de chercheurs ORSTOM/IRHO de Bondy travaillant en étroite collaboration avec des laboratoires spécialisés de l'Université, du CNRS (5), de l'INRA (5) et du CIRAD (5).

Le laboratoire expérimental de la Station de La Mé réalise un programme de création de clones et de production de vitroplants nécessaires aux essais en champ. Ce programme permet d'étudier en même temps des améliorations méthodologiques et de tester le procédé au stade pilote.

Enfin l'équipe de généticiens et sélectionneurs étudie les aspects théoriques et pratiques de l'utilisation de la culture *in vitro* pour l'amélioration du palmier à huile et la diffusion du matériel clonal.

(1) Communication présentée aux « 1987 International oil palm/palm oil Conferences, Progress and prospects », 23-26 juin 1987 à Kuala Lumpur (Malaisie).

(2) IRHO-CIRAD, Laboratoire de Physiologie végétale, S.S.C. de l'ORSTOM, 70-74, Route d'Aulnay, 93140 Bondy (France).

(3) IRHO-CIRAD, Station de La Mé, B.P. 13 Bingerville (Côte d'Ivoire).

(4) IRHO-CIRAD, Laboratoire de Physiologie végétale, S.S.C. de l'ORSTOM, 70-74, Route d'Aulnay, 93140 Bondy (France).

\* Personne à laquelle les demandes de tirés-à-part doivent être adressées

(5) CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique), INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement).

## I. — MÉTHODOLOGIE

Le programme de recherches sur la multiplication végétative *in vitro* du palmier à huile à l'IRHO comprend la sélection des arbres à cloner, la mise au point d'une méthode de micropropagation et un ensemble de tests sur les clones obtenus.

On traitera ici uniquement des questions concernant la culture *in vitro* et le test des clones. La sélection des arbres à cloner et les conséquences de la multiplication végétative sur le programme d'amélioration ont fait l'objet de plusieurs publications [Noiret *et al.*, 1981 ; Baudouin *et al.*, 1987 ; Meunier *et al.*, 1987].

### Méthodologie *in vitro*.

La seule voie actuellement connue pour la micropropagation du palmier à huile est l'embryogenèse somatique sur cal [Blake, 1983]. Des variantes méthodologiques, portant sur le choix de l'explant et le type de cal utilisé, ont été rapportées et différentes conditions de culture peuvent probablement conduire à des résultats positifs.

Dans la mesure où l'objectif est la production de grandes quantités de plants conformes, on doit prendre en compte les potentialités de multiplication de masse et les risques de variation soma-clonale.

D'un point de vue théorique, il est connu que la méthode utilisée (néoformation sur cal) est susceptible d'induire des variations [Reisch, 1983] pouvant résulter de différentes causes (culture de tissus différenciés, utilisation d'auxines de synthèse, durée de la culture *in vitro*...).

La méthode [Rabéchault et Martin, 1976], qui a permis l'obtention des premiers vitroplants nécessitait le passage par un tissu très différencié qui présentait un taux de croissance très élevé (doublement tous les 10-20 jours), appelé cal à croissance rapide (CCR). Les embryons somatiques étaient ensuite obtenus à partir de ce tissu.

L'utilisation des CCR présentait les caractéristiques suivantes :

- ils étaient obtenus à la suite de subcultures prolongées de cals primaires issus d'explants foliaires ;
- l'apparition des CCR avait une fréquence faible et ces tissus semblaient provenir d'un petit nombre de cellules de cals primaires ;
- l'amplification des cultures (pour une production industrielle de vitroplants) devait être faite par multiplication des tissus au stade CCR et sur des milieux riches en auxine chlorée.

Ces caractéristiques ont été jugées défavorables pour obtenir une bonne conformité et une bonne homogénéité des clones, et des recherches ont été entreprises avec pour objectifs :

- l'obtention de néoformations sur cals primaires,
- l'amplification des cultures par multiplication de ces néoformations,
- la réduction (dose-durée) de l'utilisation de phytohormones.

Un nouveau procédé a été mis au point [Pannetier *et al.*, 1981] qui permet l'obtention d'embryons somatiques à partir d'un petit nombre de structures embryogènes apparaissant sur des cals issus de fragments de jeunes feuilles cultivés en présence de 2,4-D.

La production de masse est ensuite assurée par la mise en place d'un phénomène d'embryogenèse secondaire, ce qui permet d'établir des souches d'embryoïdes en prolifération.

Ce phénomène d'embryogenèse secondaire, qui n'est pas parfaitement expliqué d'un point de vue biologique, présente les caractéristiques suivantes :

- il se réalise sans apport de régulateur de croissance exogène ;
- il peut être illimité dans le temps : des souches d'embryoïdes en prolifération sont cultivées depuis sept années au laboratoire de Bondy sans présenter de modifications de comportement ou d'aspect ;
- il permet la production de masse de matériel *in vitro* en entraînant une croissance exponentielle des souches d'embryoïdes, et une production simultanée de pousses feuillées par le développement des embryoïdes les plus âgés.

Ce processus permet la constitution d'une banque de clones sous forme de souches d'embryoïdes en prolifération qui peut être gérée d'une manière relativement simple pour assurer une production à l'échelle industrielle. De plus, les résultats obtenus grâce aux techniques de cryoconservation [Engelmann *et al.*, 1985] permettent de stocker des souches d'embryoïdes pendant de longues périodes en bloquant toute activité cellulaire, et donc devant exclure tout risque de variation.

Cette méthode d'embryogenèse directe sur cal primaire présente plus de garantie pour la conformité et l'homogénéité du matériel clonal pour les raisons suivantes :

- les cals sont cultivés dans des conditions limitant leur croissance, et l'on tente de raccourcir au maximum la phase cal ;
- la multiplication des tissus est réalisée sur des cultures d'embryoïdes, donc sur des structures plus organisées que des cals, et sans apport de phytohormones ;
- lorsque l'introduction d'auxines dans les milieux de culture est essentielle (explants, cals), leur concentration a été réduite au maximum ; elles ont été totalement supprimées pour les étapes où elles ne sont pas indispensables.

### Essais clonaux.

La réalisation d'essais clonaux a pour objectif, d'une part de s'assurer de la conformité du matériel produit et d'autre part de rechercher les meilleurs clones d'un point de vue agronomique. Toute modification importante du procédé de propagation *in vitro* nécessite de nouveaux essais pour vérifier l'incidence éventuelle de ces modifications. C'est la raison pour laquelle l'IRHO a attendu le résultat des recherches sur le procédé avant d'entreprendre un programme important de création de clones et de production de vitroplants.

Le matériel végétal produit est contrôlé :

- 1) en plantant au champ les premiers vitroplants obtenus de chaque clone, ce qui permet de s'assurer rapidement de la conformité du matériel ;
- 2) en répétant tous les ans la plantation d'un échantillon de clones afin de connaître la stabilité des cultures dans le temps.

Une série d'essais est également nécessaire afin de déterminer l'influence de la cryoconservation sur le comportement des vitroplants produits à partir de cultures d'embryoïdes conservées dans l'azote liquide.

La plupart de ces essais sont en même temps des essais comparatifs de clones car ils sont plantés suivant un dispositif statistique en lattice équilibré ou en blocs randomisés avec 6 répétitions. La parcelle élémentaire a 16 arbres afin de disposer de 4 arbres internes pour lesquels les effets de compétition entre clones sont éliminés. Une seule densité est uti-

lisée pour le moment, 143 arbres/ha, mais il est prévu de réaliser des essais de densité avec les clones les plus intéressants et dont l'encombrement serait réduit.

Un clone témoin et des croisements témoins sont systématiquement utilisés dans les essais. Les croisements témoins sont ceux dans lesquels on a choisi les têtes de clones de l'essai.

Certains essais sont répétés dans des conditions écologiques différentes afin de mettre en évidence d'éventuelles interactions génotype  $\times$  environnement et des plantations semi-industrielles de 5 à 25 ha par clone sont plantées pour étudier les problèmes cultureux posés par ce nouveau matériel.

Par ailleurs, le comportement des clones vis-à-vis de la fusariose est testé au stade préépinière comme pour le matériel sexué et les clones les plus tolérants à l'issue de ce test seront plantés dans une zone très infestée par la maladie [Renard *et al.*, 1972].

Enfin des mesures de l'activité mitochondriale sont effectuées depuis peu sur tous les clones à partir de racines prélevées sur des plants de 6 mois. L'objectif est d'utiliser les résultats de ces mesures biochimiques pour faire un tri des clones les plus prometteurs comme on le pratique déjà actuellement sur les croisements [Kouamé et Noiret, 1981].

## II. — PROGRAMME ET RÉSULTATS

Le développement du procédé ORSTOM/IRHO de micropropagation du palmier à huile a conduit à l'installation d'un laboratoire expérimental sur la Station principale de La Mé en Côte d'Ivoire.

Cette unité de 350 m<sup>2</sup> emploie 17 personnes, permet le clonage annuel de 40 arbres, elle a une capacité de production de 150 000 vitroplants/an.

Le programme de ce laboratoire est, d'une part la recherche d'améliorations méthodologiques pour le passage à l'échelle pilote, d'autre part la production des plants nécessaires aux essais, et enfin la création d'une banque de souches embryoides qui permettra, lorsque les essais aux champs auront confirmé la valeur de la méthode, de passer directement à la production industrielle.

Depuis l'ouverture de cette unité en 1981, le clonage de 198 palmiers âgés de 20 à 25 ans, sélectionnés pour leur qualité agronomique et appartenant à 30 croisements, a été tenté.

### Performance du procédé.

Le procédé utilisé a permis l'obtention de cals sur tous les palmiers prélevés. La variabilité observée pendant

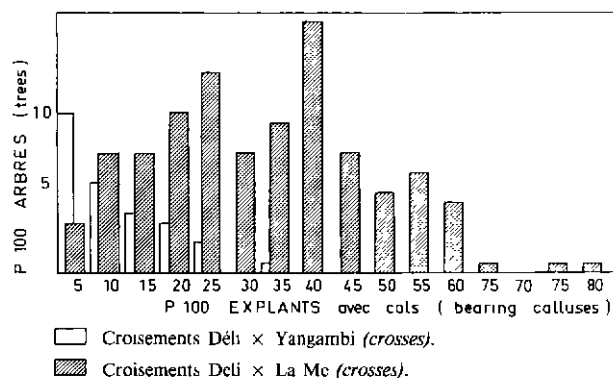


FIG. 1. — Callogenèse sur 151 palmiers (Callogenesis on 151 palms) —

l'étape callogenèse est due en partie à l'origine génétique des arbres utilisés (Fig. 1). Dans les mêmes conditions de culture, le rendement cal/explant est de 25 à 30 p. 100 en moyenne pour les croisements d'origine Dêli  $\times$  La Mé (DE  $\times$  LM) et de 5 à 10 p. 100 pour les croisements d'origine Dêli  $\times$  Yangambi (DE  $\times$  YA). A l'intérieur d'un même type de croisement, une variabilité importante est observée (de quelques p. 100 à 80 p. 100 pour les arbres d'origine DE  $\times$  LM), sans que les causes principales de ce phénomène aient pu être formellement identifiées.

Par ailleurs, on a noté une hétérogénéité importante dans l'aspect des néoformations, avec un taux élevé de structures racinaires pour les croisements d'origine DE  $\times$  YA.

L'embryogenèse sur cal primaire a été testée sur 188 clones et des formations embryogènes ont pu être observées dans 137 cas. La fréquence d'apparition d'embryons somatiques est liée au temps d'incubation des cals en « conditions embryogènes » (Fig. 2). Dans le cas de palmiers âgés de 20 à 25 ans, après 12 mois de culture des cals, 44 p. 100 des clones présentent des néoformations, 75 après 24 mois et près de 100 p. 100 peuvent être atteints après 40 mois de culture. Toutefois, en considérant les risques d'induction de variabilité *in vitro*, il est théoriquement défavorable de maintenir pendant de longues périodes des tissus indifférenciés sur des milieux contenant des phytohormones. Des résultats récents, obtenus sur une trentaine d'arbres dans un autre laboratoire utilisant le même procédé ont montré qu'une amélioration sensible peut être observée en utilisant des palmiers âgés de 9 à 10 ans.

Dans ce cas, le taux de succès est de 70 p. 100 après quatre mois d'incubation en conditions embryogènes.

De même, quatre palmiers de pépinière, clonés en 1979 par Pannetier *et al.*, [1981], avaient tous présenté une embryogenèse après trois à quatre mois de culture des cals.

Ces observations peuvent être rapprochées des résultats classiques observés sur d'autres plantes pérennes montrant que la réussite de la micropropagation *in vitro* est directement liée à l'âge des plantes-mères [Bajaj, 1984].

La brièveté du temps de culture de tissus indifférenciés étant favorable à la multiplication conforme, on peut considérer que l'utilisation de jeunes palmiers est un facteur positif.

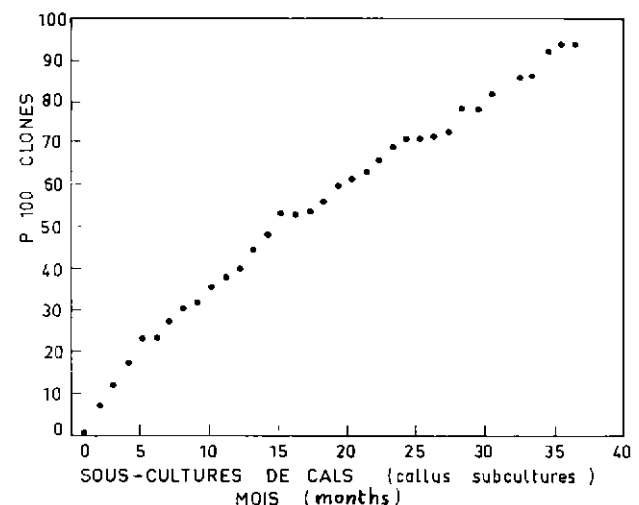


FIG. 2. — Pourcentage cumulé de palmiers donnant des embryons somatiques. (Cumulative percentage of palms giving somatic embryos).

La production de masse est assurée par l'obtention et le maintien du phénomène d'embryogenèse secondaire. Les premiers travaux réalisés sur les souches d'embryoïdes en prolifération ont montré que l'utilisation de phytohormones n'est pas indispensable à cette étape. Cette propriété a été estimée comme favorable à l'obtention de plants conformes, et les travaux de mise au point des milieux de culture ont porté sur la plupart des constituants, à l'exception des phytohormones dont l'utilisation a été systématiquement exclue. En 1984, après trois années d'activité, 5 p. 100 des clones embryogènes produisaient des embryoïdes permettant l'obtention de souches en prolifération. Des améliorations significatives ont été obtenues et une meilleure connaissance du matériel végétal ainsi que l'accroissement du savoir-faire pour la culture des embryoïdes ont permis au laboratoire de La Mé de disposer à fin 1986 de souches appartenant à 36 clones différents et représentant 27 p. 100 des clones embryogènes. Compte tenu de l'évolution des résultats (Tabl. I), il est probable que ces chiffres seront améliorés dans les prochains mois.

### Production de vitroplants.

Le développement des embryons somatiques à partir des souches en prolifération s'effectue en deux étapes dans nos conditions de culture. L'enracinement spontané est rare et ne conduit qu'à un système racinaire insuffisant pour le transfert en conditions naturelles.

Le développement de l'apex caulinaire intervient en premier ; lorsque les pousses ont atteint 5 à 7 cm (après 4 à 6 mois de culture), une étape d'enracinement est réalisée. Cette induction provoquée de la rhizogenèse présente deux avantages : d'une part elle conduit à la formation d'un système racinaire vigoureux avec un taux de succès de 80 p. 100 en moyenne et, d'autre part, elle permet de synchroniser la production de vitroplants pour le passage en préépinière.

Le laboratoire de La Mé a produit plus de 137 000 vitroplants appartenant à 59 clones différents entre 1983 et 1986 (Tabl. II). L'augmentation de la production est une conséquence, à la fois du nombre de clones disponibles et d'une meilleure connaissance du phénomène d'embryogenèse secondaire dont la maîtrise était sensiblement améliorée en 1985-1986 (Tabl. I).

Si l'on considère la répartition de la production par clone, 22 clones ont produit plus de 1 000 vitroplants et,

parmi eux, 3 ont produit plus de 10 000 plants. Ceci correspond approximativement aux souches d'embryoïdes en prolifération disponibles fin 1985, et ce nombre devrait atteindre 36 en 1987.

Les vingt-quatre clones ayant produit moins de 100 vitroplants n'ont pas encore permis la production de souches d'embryoïdes en prolifération à fin 1986. Dans ce cas, des structures à potentialité embryogène ont été obtenues sur les cals, quelques embryons somatiques ont été produits mais le phénomène d'embryogenèse secondaire n'est pas encore établi et la production de vitroplants est donc faible.

### Essais aux champs — Station de La Mé.

De 1983 à 1986, 44 clones ont été plantés en essais comparatifs et 24 nouveaux clones le seront en 1987. Exception faite de trois clones plantés en 1983 provenant de plants au stade pépinière clonés à Bondy (France) tous les clones ont été produits au laboratoire de La Mé à partir d'arbres adultes. Dans tous les cas, la méthode d'embryogenèse sur cal primaire est utilisée ; les pousses feuillées ont été enracinées moins d'un an après l'embryogenèse.

Toutes les inflorescences mâles et femelles observées pour les plantations de 1983 à 1985 sont normales (Tabl. III). Pour les plantations 1983 et 1984, les analyses de production sont en cours mais sont encore trop partielles pour être exploitées. Dans tous les cas, l'aspect végétatif est parfaitement normal.

Par ailleurs, deux clones produits par embryogenèse sur CCR ont été plantés à La Mé en 1984 et 1985 (Tabl. IV). Le premier, planté en 1984, a présenté des floraisons mâles et femelles anormales, analogues à celles observées sur les clones produits par Unifield T. C. [Corley, 1986].

On observe pour les inflorescences femelles, un développement des staminodes en pièces charnues s'accompagnant au niveau du fruit d'un avortement ou d'un développement parthénocarpique. Dans le cas des inflorescences mâles, on observe également un développement anormal des étamines en pièces charnues.

Il semble par ailleurs que cette anomalie de la morphogenèse florale s'accompagne d'anomalies du port végétatif visible au jeune âge [Ollagnier, *communication personnelle*].

L'uniformité des 208 individus plantés montre que ces anomalies ne résultent pas d'un événement fortuit mais que

TABLEAU I. — Evolution du nombre de clones utilisables en production industrielle  
(*Evolution in the number of clones usable in mass production*)

		Clones embryogènes ( <i>Embryogenic clones</i> )	Culture en production industrielle ( <i>Culture in mass production</i> )	p. 100
Juillet ( <i>July</i> )	1984	64	3	5
	1985	84	10	12
	1986	107	26	24
Décembre ( <i>December</i> )	1986	132	36	27

TABLEAU II. — Production annuelle de vitroplants  
(*Annual production of plantlets*)  
Laboratoire de La Mé (*Laboratory*) — Côte d'Ivoire

Années ( <i>Years</i> )	Production de vitroplants ( <i>Plantlet production</i> )	Nombre de clones ( <i>Number of clones</i> )
1983	2 324	9
1984	12 408	28
1985	52 010	24
1986	70 962	46
1987	150 000 (1)	
Total 1983-1986	137 714	50 (2)

(1) Prévisions pour 1987 (*Forecasts for 1987*).

(2) 33 clones ont été utilisés au moins 2 années différentes (33 clones have been used in at least 2 different years).



la méthode utilisée mettant en œuvre des tissus très différenciés, cultivés pendant des temps longs sur des milieux riches en auxines, peut être incriminée.

Un autre clone, planté en 1985, obtenu par embryogenèse sur CCR en présence d'anti-auxines présente la même anomalie sur les inflorescences mâles, les plants étant encore trop jeunes pour avoir pu permettre l'observation des inflorescences femelles. Simultanément, des vitroplants produits par embryogenèse directe sur cal primaire du même individu présentent une morphogenèse mâle normale.

Le phénomène CCR semble donc bien devoir être mis en cause dans l'apparition d'anomalies.

### Essais multilocaux et semi-industriels.

Depuis 1986, un essai multilocal a été mis en place sur sept sites différents situés en Asie, Amérique du Sud et Afrique pour permettre d'étudier le comportement des clones dans diverses conditions environnementales. Dix neuf clones seront livrés entre 1986 et 1987 au stade préépépière pour réaliser ces essais.

Par ailleurs, du matériel clonal a été ou sera fourni à toutes les sociétés de plantations désirant mettre en place des essais semi-industriels en réalisant des parcelles de 5 à 25 ha, afin d'étudier le comportement des plants issus de la culture *in vitro*. Sur des surfaces importantes et d'étudier les pratiques culturales appropriées à ce genre de matériel.

## III. — CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les travaux réalisés depuis plus de quinze années en France, puis en Côte d'Ivoire, ont permis de maîtriser un procédé de multiplication végétative *in vitro* du palmier à huile.

Des améliorations méthodologiques, obtenues à toutes les étapes, et particulièrement sur l'obtention de souches d'embryoïdes en prolifération, ont permis la production de plus de 1 000 plants pour 22 clones différents et de plus de 10 000 plants pour 3 clones, ce qui met en évidence les possibilités de la méthode.

Si l'on ajoute à ces résultats la réalisation d'une banque de souches d'embryoïdes provenant de 36 clones différents, il est maintenant possible d'envisager un développe-

ment industriel du procédé, la méthodologie *in vitro* n'étant plus un facteur limitant à l'extension de cette technologie.

Les premiers résultats obtenus dans les essais aux champs sont eux-mêmes très encourageants : aucun des palmiers produits par embryogenèse directe sur cal ne présentent d'anomalie. A l'inverse, les vitroplants produits par embryogenèse sur CCR présentent tous une anomalie de la morphogenèse florale identique à celle observée par d'autres équipes et utilisant un procédé différent.

On peut penser que l'anomalie du système reproducteur rapportée par Corley [1986], et que l'on retrouve sur les vitroplants de La Mé issus de CCR, est la conséquence d'une perturbation pouvant être induite par différents facteurs et apparaissant de préférence à d'autres anomalies.

Dans notre cas, le passage par CCR est en cause, tandis que selon Corley [1986], le temps de culture *in vitro* serait à l'origine de ce désordre.

Si l'on admet que la cible responsable de ce phénomène est l'une des premières touchées par une utilisation inadéquate de la culture *in vitro*, on peut penser qu'une méthode produisant des vitroplants présentant une morphogenèse florale normale sera conservatrice pour tous les autres caractères. Les plants devraient donc présenter une conformité satisfaisante.

Ces hypothèses seront vérifiées par les résultats des essais aux champs mis en place actuellement.

En ce qui concerne l'influence du temps passé *in vitro*, les observations ont été réalisées à La Mé sur des plants produits moins d'un an après l'embryogenèse sur cal et nous ne disposons actuellement d'information sur ce point précis sur pour une seule souche d'embryoïdes. Celle-ci a fourni des plants utilisés en Côte d'Ivoire en 1983, en Indonésie et au Cameroun en 1985 deux ans et demi plus tard. Dans tous les cas, les inflorescences sont normales, mais les informations portent sur un nombre faible d'individus. La plantation systématique de mêmes clones pendant plusieurs années est en cours et l'apparition des premières inflorescences permettra de confirmer ces résultats.

A l'heure actuelle, les anomalies que nous avons observées peuvent être liées à une cause méthodologique connue : le passage par cultures de cal à croissance rapide (CCR), voie qui n'est plus utilisée par l'IRHO pour la production de clones de palmier à huile. Aucune information actuellement disponible ne remet en cause la méthode de multiplication végétative retenue et mise au point après des choix théoriques clairement définis.

**TABEAU III. — Vitroplants obtenus par embryogenèse sur cals primaires**

(*Plantlets obtained by embryogenesis on primary calluses*)  
Plantation de La Mé (Côte d'Ivoire)

Années (years)	Nombre de (Number of)		P. 100 floraison normale (normal flowering)
	Clones	Plants (Plantlets)	
1983	3	93	100
1984	11	1 042	100
1985	25	1 399	100
1986	16	788	—
Total	44 (1)	3 312	—

(1) 11 clones ont été plantés 2 années successives (11 clones have been planted in 2 successive years).

**TABEAU IV. — Vitroplants obtenus par embryogenèse sur culture à croissance rapide — CCR —**

(*Plantlets obtained by embryogenesis on fast growing cultures — FGC*)  
Plantation de La Mé (Côte d'Ivoire)

Années (years)	Nombre de (Number of)		P. 100 floraison normale (normal flowering)
	Clones	Plants (Plantlets)	
1984	1	208	0
1985	1	15	0
Total	2	223	—

## RÉFÉRENCES

- [1] BAJAJ Y. P. S. (1984). — Biotechnology of tree improvement for rapid propagation and biomass energy production. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* Vol. 1 (Ed. Y. P. S. Bajaj) p. 1-23, Berlin, Springer-Verlag.
- [2] BAUDOUIN L., ASMADY et NOIRET J. M. (1987). — Importance des facteurs de l'environnement dans le choix des têtes de clones chez le palmier à huile. Communication présentée aux « 1987 International oil palm/palm oil conferences; Progress and prospects », 23-26 juin 1987 à Kuala Lumpur (Malaisie); et *Oléagineux*, 42, N° 7 (bilingue fr.-angl.), p. 263-269.
- [3] BLAKE J. (1983). — Tissue culture propagation of coconut, date and oil palm. *Tissue Culture of Trees* (Ed. J. H. DODDS), p. 29-50, Westport, AVI Publisher.
- [4] CORLEY R. H. V., BARRET J. N., and JONES L. H. (1977). — Vegetative propagation of oil palm via tissue culture. *Oil Palm News*, 22, p. 2-7.
- [5] CORLEY R. H. V., WONG C. Y., WOOL K. C., and JONES L. H. (1981). — Early results from the first oil palm clone trials. *The Oil Palm in Agriculture in the Eighties*, Vol. 1 (Ed. E. Pushparajah and P. S. Chew), p. 173-196, Kuala Lumpur, Incorporated Society of Planters.
- [6] CORLEY R. H. V., LEE C. H., LAW I. H., and WONG C. Y. (1986). — Abnormal flower development in oil palm clones. *Planter*, 62, p. 233-240.
- [7] ENGELMANN F., DUVAL Y. and DEREUDDRE J. (1985). — Survie et prolifération d'embryons somatiques de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) après congélation dans l'azote liquide. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 301, Série III, N° 3, p. 111-116.
- [8] JONES L. H. (1974). — Propagation of Clonal Oil Palm by Tissue Culture. *Oil Palm News*, 17, p. 1-8.
- [9] KOUAMÉ B., NOIRET J. M. (1981). — Test précoce de la productivité chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) par mesure des activités mitochondriales (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 36, N° 11, p. 533-542.
- [10] MEUNIER J., BAUDOUIN L., NOUY B. et NOIRET J. M. (1987). — The expected value of oil palm clones. Communication présentée aux « 1987 International oil palm/palm oil conferences; Progress and prospects », 23-26 juin 1987 à Kuala Lumpur (Malaisie); et *Oléagineux*, 43 (à paraître).
- [11] NOIRET J. M. (1981). — Application de la culture *in vitro* à l'amélioration et à la production de matériel clonal chez le palmier à huile (trilingue fr.-angl.-esp.). *Oléagineux*, 36, N° 3, p. 123-126.
- [12] NWANKO B. A. and KRIKORIAN A. D. (1983). — Morphogenetic Potential of Embryo and Seedling. Derived callus of *Elaeis guineensis* Jacq. var *Pisifera* Becc. *Annals of Botany*, 51, p. 65-76.
- [13] PANNETIER C., ARTHUIS P. et LIÉVOUX D. (1981). — Néof ormation de jeunes plantes de *Elaeis guineensis* à partir de cals primaires obtenus sur fragments foliaires cultivés *in vitro* (trilingue fr.-angl.-esp.). *Oléagineux*, 36, N° 3, p. 119-122.
- [14] PARANJOTHY K. and OTHMAN R. (1982). — *In vitro* propagation of oil palm. *Proc. 5th Intl. Cong. Plant Tissue and Cell Culture* (Ed. Fujirawa, A.), p. 747-748, Tokyo, Japanese Association for Plant Tissue Culture.
- [15] RABÉCHAULT H. et MARTIN J. P. (1976). Multiplication végétative du palmier à huile (*E. guineensis* Jacq.) à l'aide de tissus foliaires. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 238, Sér. D, p. 1735-1737.
- [16] REISCH B. (1983). — Genetic Variability in Regenerated Plants. *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol. 1 (Ed. Evans D. A., Sharp W. R., Ammirato P. V., Yamada Y.), p. 748-769, New York, MacMillan Publ. Co.
- [17] RENARD J. L., GASCON J. P., BACHY A. (1972). — Recherche sur la fusariose du palmier à huile (bilingue fr.-angl.). *Oléagineux*, 27, N° 12, p. 581-591.
- [18] SMITH W. K. and JONES L. H. (1970). — Plant Propagation through Cell Culture. *Chemistry and Industry*, 44, p. 1399-1401.

## SUMMARY

***In vitro* vegetative propagation of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Strategy and results.**

Y. DUVAL, T. DURAND GASSELIN, K. KONAN and C. PANNETIER, *Oléagineux*, 1988, 43, p. 39-47.

The vegetative propagation of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) has been developed through somatic embryogenesis on calluses of various organs. Passing through the callus stage presents certain risks with respect to genetic stability. Furthermore, mass production requires the proliferation of tissues cultured *in vitro*. Proliferation may involve either calluses or embryoids. In the first case, it involves the proliferation of undifferentiated tissues under conditions favouring rapid growth (auxin-rich culture media — more often than not chlorinated) and sometimes over quite long periods. In the second case, somatic embryos are produced under conditions which do not favour rapid growth. Embryoids are then multiplied through an adventitious embryogenesis phenomenon, with no added growth substances. These conditions should be more propitious to the production of true-to-type plantlets. This process has been developed and applied to more than 200 trees between 20 and 25 years old, selected for their agronomical qualities, at the La Mé laboratory in Côte d'Ivoire. All the trees used gave calluses and 40 p. 100 of them gave somatic embryos after a year of *in vitro* culture. Yields were better if younger individuals were used — 7 to 9 years (70 p. 100 give embryoids after 4 months of culturing). From 1983 to 1986, 44 clones were planted on 38 hectares. The 1983 and 1984 plantings have 100 p. 100 of individuals with normal characteristics, particularly with respect to bunches; production is currently being analyzed.

## RESUMEN

**Propagación vegetativa de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.) por cultivo *in vitro*. Estrategia y resultados.**

Y. DUVAL, T. DURAND GASSELIN, K. KONAN y C. PANNETIER, *Oléagineux*, 1988, 43, N° 2, p. 39-47.

La propagación vegetativa de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.) ha sido desarrollada utilizando la vía de la embriogénesis somática sobre callos de varios órganos. El paso por la etapa de callos lleva consigo riesgos para la estabilidad genética. Además, la producción masiva necesita la proliferación de tejidos cultivados *in vitro*. Esta proliferación puede ocurrir bien sea en la etapa de callos, o en la de embrioides. Dentro del primer caso, se trata de la proliferación de tejidos no diferenciados dentro de condiciones que favorecen un crecimiento rápido (medios de cultivo ricos en auxinas, cloradas las más veces), y por plazos que pueden ser largos. Dentro del segundo caso los embriones se producen sobre callos procedentes de fragmentos de hojas y subcultivados dentro de condiciones que no favorecen un crecimiento rápido. Los embrioides se multiplican luego por un fenómeno de embriogénesis adventicia sin aporte de sustancias de crecimiento. Estas condiciones serán más favorables a la producción de plantones « conformes ». Esta forma de producción se desarrolló y se aplicó a más de 200 árboles de 20 a 25 años de edad seleccionados por sus cualidades agronómicas en el laboratorio de La Mé, en Côte d'Ivoire. Todos los árboles usados dieron callos, y un 40 p. 100 de los mismos proporcionó embriones somáticos al cabo de 1 año de cultivo *in vitro*. Los rendimientos son más altos en el caso de utilizarse individuos más jóvenes, de 7 a 9 años de edad (dando embrioides un 70 p. 100 al cabo de 4 meses de cultivo). De 1983 a 1986, se sembraron 44 clones en 38 hectáreas. Las siembras 1983 a 1984 muestran un 100 p. 100 de individuos de características normales, particularmente por lo que respecta a racimos; la producción se está analizando.